

Smithsonian Tropical Research Institute

Minera Panamá

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA)

CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	Período reportado	Elaborado por	Fecha de Emisión del Reporte
13202, 13207 13208, 13212 13221, 13223 13232, 13233	Agosto-Octubre	INSTITUTO SMITHSONIAN DE INVESTIGACIONES TROPICALES	12/11/2021

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO

"LA CONSERVACIÓN EX SITU DE RANAS DEL ÁREA DE DONOSO, RENOVACIÓN POR TRES AÑOS"

Período: Agosto-Octubre 2021

Por: Roberto Ibáñez D., Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá, Smithsonian Tropical Research Institute (STRI)

Fecha: 12 de noviembre de 2021

Introducción

El 1 de septiembre de 2019, Minera Panamá S.A. (MPSA) y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) firmaron un acuerdo con el fin de extender el proyecto de conservación ex situ de anuros del área de Donoso por tres años. Con este acuerdo se continuarán los esfuerzos de conservación e investigación que contribuirán al manejo y preservación de los anfibios de Donoso, enfocándose en las especies de interés (EdI). Este proyecto es coordinado por el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá (PARC), que lleva a cabo las actividades de conservación ex situ dentro de instalaciones del STRI, ubicadas en Gamboa, provincia de Colón. En este informe se presentan los avances, de acuerdo a los objetivos acordados de este proyecto, realizados durante el período Agosto-Octubre 2021.

Durante este trimestre, a pesar de las limitaciones resultado de la pandemia causada por el COVID-19, nosotros hemos continuamos brindándole el todo cuidado requerido a las poblaciones de anfibios que mantenemos en el programa de conservación ex situ en Gamboa; al mismo tiempo, evitando o minimizando el riesgo a la salud de nuestros colaboradores. Estas actividades se realizaron siguiendo las regulaciones y la autorización de las entidades de gobierno correspondientes y las medidas indicadas por el STRI. No obstante, varias actividades adicionales han estado suspendidas; las cuales, no están directamente vinculadas al cuidado y reproducción de los animales, como aquellas que están relacionadas con trabajo de campo. Estas actividades se tendrán que planificar y reprogramar en el futuro, cuando las mismas se puedan realizar normalmente.

Objetivo 1. – Mantener la instalación para la cría y reproducción de poblaciones en cautividad de las especies de anfibios de interés de Donoso.

Con relación a nuestra inversión en la capacitación de personal especializado en cría de anfibios, hemos realizado actividades. Debido a que algunas restricciones relacionadas a la pandemia del COVID-19 se mantuvieron flexibles durante este período, fue posible que estudiantes universitarios pudiesen continuar con sus investigaciones sobre técnicas de reproducción asistida en nuestras instalaciones y, así, completar sus trabajos de graduación. La capacitación de cuatro de nuestros colaboradores, que no reportamos anteriormente, se dio con su participación en el curso online "Nutrición de Fauna Silvestre", durante el 26-28 de julio pasado. Sin embargo, aún no ha sido posible dedicarnos a la capacitación y participación de otras personas, como voluntarios o pasantes, en estos meses.

Realizamos trabajos de mantenimiento y reparación de equipo en la instalación de Gamboa, principalmente relacionados al mantenimiento del generador eléctrico y de la planta de tratamiento de aguas residuales; además, se reemplazaron tubos de luces UVB, temporizadores eléctricos y una bomba de agua en los contenedores. Continuamos utilizando al último contenedor para la reproducción de ranas, el cual aún requiere ser habilitado completamente. Durante este período, se aseguraron los fondos y se contrató a la compañía que instalará el sistema de rociadores contraincendios en la pequeña edificación (de 150 m^2) para la producción de invertebrados. Se estima que la instalación del sistema de rociadores terminará a finales de este año.

La producción de invertebrados ha continuado ininterrumpidamente en los salones temporales, ubicados en el área conocida como Santa Cruz. Continuamos produciendo grillos, dos especies de moscas de las frutas, colémbolos, larvas de polilla de despensa y polillas de cera ("waxworms"), lombrices de tierra, una especie de cucaracha, larvas de dos especies de escarabajos ("mealworms" y "superworms"), cochinillas y, en este período, recolectando larvas de moscas soldado negro (familia Stratiomyidae) para alimentar a las poblaciones de anfibios en cautiverio. Durante este trimestre Agosto-Octubre, tuvimos un par de eventos de mortalidad en los grillos. A pesar de estos eventos, la producción de invertebrados sobrepasó el nivel requerido como alimento de las ranas que tenemos en Gamboa. Esto recalca la importancia de mantener niveles altos de producción de alimento, para que los anfibios no sean afectados cuando ocurren este tipo de inconvenientes.

Los números de individuos de las poblaciones en cautiverio de las especies de anfibios del área de Donoso, que manteníamos al 31 de octubre de 2021, en Gamboa eran:

Especie	Machos	Hembras	Juveniles	Total	Reproducción en cautiverio	Renacuajos
Andinobates geminisae	36	80	85	201	+	142
Atelopus varius	283	192	356	831	+	~800
Craugastor evanesco	18	21	0	39	-	-
Gastrotheca cornuta	6	1	0	7	-	-
Oophaga vicentei	35	44	15	94	+	~34
Total	**378**	**338**	**456**	**1172**		**~976**

Nota: *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta* no presentan etapa de larvaria o renacuajo libre.

Al 31 de octubre de 2021, teníamos 1172 ranas de cinco especies de anuros del área de Donoso. Entre las especies, que se mantienen en cautiverio, están cinco Especies de Interés (EdI) del Proyecto Mina de Cobre Panamá: *Andinobates geminisae*, *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco, Gastrotheca cornuta* y *Oophaga vicentei*.

Para las especies *Andinobates geminisae*, *Craugastor evanesco y Oophaga vicentei* han sido colectados suficientes individuos fundadores con el fin de iniciar la población ex situ. Sin embargo, aún es recomendable obtener más individuos de *Atelopus varius* (6-10 hembras de la

población en Nuevo Petaquilla) y *Gastrotheca cornuta* (13 machos y 19 hembras) para obtener una representatividad adecuada de su diversidad genética. La especie *G. cornuta* sido particularmente difícil de encontrar; por lo que, nos estaremos concentrando en la búsqueda de más individuos de esta especie. Esperamos reanudar expediciones el año próximo, con el fin de recolectar más fundadores de *G. cornuta*.

Durante este período, se mantuvieron 43 parejas de *Andinobates geminisae* en los tanques de reproducción, incluyendo las primeras parejas constituidas por individuos de la segunda generación filial (F2) nacidos en cautiverio. Entre estas parejas hubo varios eventos de reproducción. Resultado de estos eventos reproductivos, para el final del período, se tenían 142 renacuajos y 85 juveniles. Adicionalmente, mantuvimos 35 parejas de *Oophaga vicentei* durante este período. Hemos observado 34 renacuajos de *O. vicentei*, algunos entre las plantas bromelias al final de este período. Debido a que no es recomendable manipular las bromelias para evitar la interrupción del cuidado parental de los huevos y renacuajos, no podemos establecer si hay más de éstos entre las plantas. Continuamos con el tratamiento tópico de las hembras reproductoras de *O. vicentei* con gotas de gluconato de calcio y el uso de agua reconstituida de ósmosis inversa para criar a los renacuajos, con el propósito de reducir la aparición del síndrome de patas débiles (SLS) en los post-metamorfos. Síndrome que no les permite moverse con normalidad para alimentarse y, como consecuencia, mueren. En este período, solamente tuvimos dos post-metamorfos de *Oophaga vicentei* que presentaron el SLS. Consideramos que la aparición del SLS en estos post-metamorfos se debió a que los procedimientos se iniciaron cuando los renacuajos se encontraban en una etapa de desarrollo avanzada, ya algo tarde para que se obtuviese un efecto adecuado. Esperamos que, en el próximo trimestre, los post-metamorfos no presenten este síndrome.



Puesta de huevos de *Oophaga vicentei* con desarrollo embrionario (a la izquierda), en etapa larvaria o de renacuajo (en el centro) y renacuajo en etapa de desarrollo avanzado (a la derecha) donde se observan un par de huevos infértiles que le colocó la madre para alimentarlo.

Se mantuvieron 18 parejas de adultos de *Craugastor evanesco* en tanques para su reproducción, se hicieron modificaciones en estos tanques e iniciamos nuevos tratamientos

hormonales en 14 hembras y 14 machos para inducir su reproducción. En este período se llevaron a cabo un par de ensayos con tratamientos hormonales. Dos parejas tratadas colocaron masas de huevos, las cuales enterraron; sin embargo, aún no se observan señales de desarrollo en los huevos superficiales. En días posteriores a aplicación de los tratamientos, fallecieron algunos de los individuos tratados; por lo que, estamos investigando la razón de estas muertes.



Adecuaciones realizadas en los tanques de reproducción de *Craugastor evanesco* para los ensayos de reproducción asistida. Pareja en amplexo en recipiente con grava de río para la puesta de huevos (a la izquierda) y cámaras de video con luz infrarroja colocadas sobre cada tanque de reproducción para monitorear el comportamiento reproductivo de las parejas en los ensayos (a la derecha).



Hembra de *Craugastor evanesco*, tratada con hormonas, sobre el recipiente con arena durante el ensayo de reproducción asistida.

En el trimestre Agosto-Octubre, finalizó la salida de post-metamorfos de los tanques con renacuajos de las tres puestas de *Atelopus varius* reportadas en el trimestre antepasado (i.e., Febrero-Abril), pero todavía mantenemos tanques con renacuajos de tres parejas que depositaron huevos en el trimestre pasado (i.e., Mayo-Julio). Adicionalmente, durante Agosto-Octubre, se colocaron dos parejas en tanques de reproducción, pero estas parejas no pusieron huevos. Al final del presente período, aún teníamos un total aproximado de 800 renacuajos, descendientes de las parejas de *A. varius* que fueron colocadas en los tanques de reproducción durante el trimestre Mayo-Julio.

Como parte de los preparativos para un experimento en el laboratorio y un ensayo de liberación con *Atelopus varius*, hemos realizado cruces de individuos cuyo linaje proviene de poblaciones de tierras bajas (i.e., Donoso) con individuos de linaje proveniente de poblaciones de tierras altas. Durante Agosto-Octubre, finalizó la salida de post-metamorfos del cruce reportado en el informe anterior. En este período, se colocaron cuatro parejas en tanques de reproducción, pero éstas no se reprodujeron. Con este experimento y ensayo de liberación determinaremos si una mayor diversidad genética de los individuos confiere una mayor resistencia o tolerancia al hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.

Además, se mantuvo a dos parejas de *Gastrotheca cornuta* en tanques para su reproducción, cuyas hembras están grávidas y se les ha estado alimentando de manera asistida; pero todavía no se han reproducido; a pesar de, que a los machos se les ha observado emitiendo llamados para atraer a las hembras. A través de estos intentos y eventos reproductivos, seguimos conformando paulatinamente poblaciones estables en cautiverio de las especies EdI de Donoso. En este sentido, para las especies que se han reproducido con mayor frecuencia, *Atelopus varius*, *Andinobates geminisae* y *Oophaga vicentei*, tenemos individuos fundadores (parentales) y descendientes de la primera generación filial (F1) y la segunda generación filial (F2) en las poblaciones de éstas en cautiverio. En el caso de *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*, solamente se tienen parentales y descendientes F1.

Además, se ha continuado con la introducción de datos de los individuos de Donoso en la base de datos "Zoological Information Management System" (ZIMS) (http://www2.isis.org), lo cual facilita el manejo del inventario de animales, el control de la conformación genética y demográfica de las colecciones de animales vivos, la identificación de animales no relacionados para realizar cruces, el mantenimiento de un registro del estado de salud y el tratamiento que se le ha dado a cada individuo, entre otros.

Objetivo 2. – Continuar el trabajo para ensayos de liberación de anfibios en el área de Donoso.

En este trimestre, iniciamos un proyecto piloto para determinar el tipo de mesocosmo que más adecuado para realizar ensayos de liberación de ranas, especialmente *Atelopus varius.* Por lo cual, estamos utilizando individuos de la especie común *Rhinella alata* (familia Bufonidae), como especie sustituta por ser semejante en algunos aspectos (e.g., talla y comportamiento) a las especies del género *Atelopus*. En este proyecto piloto se comparan tres tipos de mesocosmos (con tres réplicas de cada uno) para contener a las ranas durante una liberación suave ("soft release") y éstas se mantienen a tres densidades (i.e., 1, 3 y 6 individuos). Este proyecto piloto se lleva a cabo dentro de un área boscosa de Gamboa y tendrá una duración de dos meses. Los resultados de este proyecto piloto serán aplicados en el diseño de los ensayos de liberación futuros en el área de Donoso. Para este proyecto, contamos con la colaboración

del Dr. Daniel Medina, quien ha estado asociado al Proyecto PARC desde sus inicios, y la Dra. Allison Byrne.



Proyecto piloto para evaluar tres tipos diferentes de mesocosmos para contener a las ranas durante los ensayos de liberación. En la foto solamente se aprecian dos de los tres tipos de mesocosmos en evaluación. Este proyecto se adelanta en un área boscosa de Gamboa y sus resultados serán aplicados en el diseño de los ensayos de liberación que se lleven a cabo en Donoso.

Nuestro colaborador Dr. Luke Linhoff, becario postdoctoral del Instituto Smithsonian, pudo viajar a Panamá para continuar con los ensayos *in vitro* de las secreciones de la piel ("mucosoma") de las ranas y traer algunos insumos necesarios para las investigaciones que desarrollamos. Con el Dr. Linhoff retomamos el análisis de los hisopados de piel del experimento de infección que hicimos hace más de un año y él realizó ensayos *in vitro*; sin embargo, no le fue posible llevar a cabo todos los ensayos, por lo que el Dr. Linhoff tendrá que regresar al país a inicios del próximo año para completar los análisis. Como se indicó en informes trimestrales anteriores, los resultados de estas investigaciones sobre las secreciones de la piel de los anfibios pueden tener implicaciones importantes para la liberación exitosa de ranas provenientes de poblaciones en cautiverio.

Objetivo 3. – Realizar expediciones para recolectar ciertas especies de anfibios en riesgo en el área de Donoso.

Durante este período nosotros no realizamos expediciones para recolectar individuos. Como se indicó en informes anteriores, *Gastrotheca cornuta* es una Especie de Interés (EdI), de la cual se requieren más individuos fundadores para establecer adecuadamente una población ex situ en Gamboa. Esperamos realizar una expedición al sitio 4CS6 o a sitios cercanos a la costa, luego que se reestablezca la normalidad en nuestras operaciones.

Objetivo 4. - Estudio de los hongos patógenos de anfibios en la región de Donoso.

Debido a que no realizamos expediciones a Donoso en este trimestre, no obtuvimos muestras de piel para el análisis del hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.